

# 論文審査の結果の要旨

氏名 石谷 孔司

本論文は4章からなり、第1章では研究の背景と目的が、第2章では混入ミトコンドリアマクロハプログループの新規検出法が、第3章ではヒトミトコンドリアゲノム欠損領域補完法の検証が、第4章ではヒトミトコンドリアゲノム統合分析ツール MitoSuite の開発が述べられ、結語・文献・謝辞へと続く。

PCR法とサンガー法を組み合わせることで微量DNAの塩基配列決定が可能となり、1990年代から様々な生物遺骸を用いた古代DNA研究が行われるようになった。現在は次世代シーケンサー(NGS)による高出力シーケンス技術によって、ゲノムスケールでの古代DNA分析が可能となっている。しかし、未だ解決すべき課題が多数存在する。「現代人DNAの混入(コンタミネーション)」は、古人骨DNA/ゲノム分析における非常に大きな課題である。また、アジア等の温暖湿潤な地域から出土する生物遺骸試料から得られるDNAの多くは極度に劣化しており、加えて、試料本体由来のDNA量が0.1%未満であることも珍しくない。こうした劣化試料ではミトコンドリアゲノムであっても完全長配列を得ることが難しい。本論文では、上記の課題に対してインフォマティクスからアプローチしている。第一のアプローチは、ミトコンドリア・マクロハプログループを指標とした混入DNA検出法の開発である。公開データベース(塩基配列アーカイブ等)上のヒトミトコンドリア全塩基配列とマクロハプログループの既知情報を活用し、NGS出力データから混入ミトコンドリア・マクロハプログループを検出することで混入DNAを評価する新規手法を提案している。世界各地の代表的なマクロハプログループを用いて検証した結果、平均カバレッジ10の低い読み取り深度でも9割以上の高い精度で混入マクロハプログループを特定可能であった。本手法は古代DNAに特徴的な脱アミノ化変異の検出にも対応しており、混入ヒトDNAの定性的評価にも有効であった。

第二のアプローチは、ヒトミトコンドリアゲノム欠損領域の補完法開発とそ

の評価である。ミトコンドリアゲノムの欠損補完法 (imputation) の精度について、世界各地の代表的なミトコンドリア・ハプログループの配列を用いたシミュレーション検証の結果、補完に用いるハプログループの種類によって精度に違いが見られることを明らかにした。特に、アフリカ地域で高頻度に見られるハプログループLの系統では、誤って補完される塩基の数が増える傾向を明らかにした。また、ミトコンドリアゲノムのコード領域はDループ領域に比べると **imputation errors** が少なく、高い精度で欠損塩基を補完できることを示した。さらに、約 3,000 年前の劣化古人骨試料から得られた次世代シーケンス実データに対して本欠損補完法を適用した結果、ハプログループの決定に関わる重要な変異も正しく補完できた。

第三のアプローチは、ヒトミトコンドリアゲノム統合分析ツール **MitoSuite** の開発である。古人骨試料を分析する上で、ミトコンドリア・ハプログループの決定・コンタミネーションの検出・DNAダメージの検出・変異アノテーション・ゲノムアセンブリは特に重要である。**MitoSuite** は、こうした重要項目を一括して分析できるように開発されている。また、GUIによる本ツールは優れた操作性だけでなく解析性能にも優れており、読み取り深度の厚いディープシーケンスデータでも高速かつ高精度な解析が可能である。解析結果は視覚化されるため、古代DNAにおけるダメージの検出やコンタミネーションも容易に特定可能であり、配列データ管理が特に重要な古人骨試料にとって最適な分析ツールになると期待される。

以上、本論文では、①ミトコンドリア・マクロハプログループを指標とした混入DNAの新規検出法開発、②ヒトミトコンドリアゲノム欠損領域の補完法の開発と、シミュレーションデータによる評価と実データによる検証、③ヒトミトコンドリアゲノム統合分析ツール **MitoSuite** の開発、が行われた。これらはいずれも、極めて大きな学術的進展をもたらした次世代シーケンサが登場して以降に新たに浮かび上がった課題解決に大きなインパクトを与えるものである。そして、本論文で示された新たなアプローチは、古人骨だけでなく、次世代シーケンサを用いた生物遺骸すべてのDNA/ゲノム解析に共通する問題解決に資する基盤的アプローチである。なお、本論文は植田信太郎との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士 (理学) の学位を授与できると認める。